INSTYTUT GENETYKI ROŚLIN
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Tel.: centr. **61 6550200,** sekret. **61 6550255** **Fax: 61 6550301** **E-mail: office@igr.poznan.pl**
www.igr.poznan.pl **NIP: 7811621455** **REGON: 000326204**

prof. dr hab. Piotr Kachlicki
Zakład Genetyki Patogenów i Odporności Roślin

Poznań, 25 października 2018 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Marii Ostrowskiej-Kołodziejczak
pt. „**Charakterystyka wybranych metabolitów i wskaźników jakości ziarna pszenicy i produktów pszennych pochodzących z upraw ekologicznych i konwencjonalnych**"

1. Znaczenie podjętych badań

Pszenica jest podstawowym zbożem uprawianym na obszarach o klimacie umiarkowanym, którego głównym przeznaczeniem jest konsumpcja. Uprawa zbóż stoi obecnie przed poważnymi nowymi wyzwaniami związanymi z szybko postępującymi zmianami klimatycznymi, ale także rosnącym dobrobytem w krajach Europy i Ameryki. Konsumenci coraz większą uwagę zwracają na jakość oferowanych produktów żywnościowych nie za bardzo przejmując się takimi dotychczas decydującymi wskaźnikami jak plon z hektara. Podnoszenie plonu poprzez stosowanie zabiegów chemicznych takich jak nawożenie mineralne czy intensywne stosowanie środków ochrony roślin zaczyna być kontestowane przez ludzi świadomych związanego z tym zagrożenia degradacją środowiska naturalnego. Narasta więc tendencja do powrotu do rolnictwa ekologicznego jako istotnej alternatywy. Jednak decydując się na takie uprawy należy mieć pewność, że produkty pochodzące z upraw ekologicznych będą charakteryzowały się właściwą jakością. Takie zamierzenie prezentuje oceniana rozprawa doktorska. W pracy tej analizowano ziarno i pochodzące z niego produkty (mąka, otręby, pieczywo) pochodzące z jednego tylko doświadczenia polowego przebiegającego w warunkach środowiskowych niesprzyjających infekcjom grzybowym (temperatura powyżej średniej, opady w maju i czerwcu bliskie normy a w lipcu i sierpniu poniżej średniej). Wyników uzyskanych w wyniku przeprowadzonych eksperymentów nie można więc uogólniać, jednak postępowanie analityczne zaproponowane w ocenianej rozprawie wyznacza podejście, które powinno być zastosowane w szerszej skali. Ocena zawartości komponentów chemicznych pochodzących od roślinnych metabolitów wtórnych oraz toksycznych metabolitów grzybów chorobotwórczych a także ocena wartości wypiekowej mąki i jakości pieczywa umożliwiają właściwą ocenę ziarna pochodzącego z różnych systemów uprawy.

2. Ocena pracy

Rozprawa obejmuje 120 stron i posiada układ typowy dla prac doktorskich. Zawiera ona 44 rysunki i 12 tabel.

Wykaz skrótów zamieszczony na ponad dwóch stronach obejmuje skróty nazw reagentów i technik stosowanych w pracach badawczych, analizowanych mykotoksyn i

innych pojęć używanych w pracy. Jednak wydaje się, że umieszczenie tu skrótów nazw jednostek miar zgodnych z układem SI nie byłoby na tym poziomie konieczne.

Streszczenie (w języku polskim i angielskim) w zwięzły i precyzyjny sposób omawia przedmiot i najważniejsze wyniki pracy

Wprowadzenie literaturowe na 15 stronach w komunikatywny i zwięzły sposób zaznajamia czytelnika z charakterystyką obiektu badań Autorki, jakim jest ziarno pszenicy i jego jakość wynikająca z warunków uprawy i ewentualnego porażenia przez grzyby chorobotwórcze. Omówiono najważniejsze związki fenolowe obecne w tym materiale a także przedstawiono możliwość zastosowania ergosterolu jako markera poziomu jego zanieczyszczenia grzybowego. W rozdziale tym można odnotować jedynie drobne usterki takie jak stwierdzenie, że zbiór ziarna pszenicy następuje w 89 tygodniu wegetacji (str. 14) czy też niepoprawne określenie struktury kwasu *p*-kumarowego (Rys. 4). W kontekście moich dalszych uwag dotyczących uzyskanych wyników chciałbym podkreślić, że w tym rozdziale prawidłowo określony jest kwas wanilinowy oraz zdefiniowane pojęcie aglikonów flawonoidów.

Cel pracy poprawnie i precyzyjnie przedstawia główne zamierzenia i przewidywane efekty planowanych doświadczeń. Należy stwierdzić, że określenie podobnej przydatności mąki z ziarna pszenicy pochodzącej z upraw konwencjonalnych i ekologicznych do wypieku pieczywa może mieć duże znaczenie dla promowania rozwoju upraw przyjaznych dla środowiska naturalnego.

Część doświadczalna została opisana w sposób umożliwiający wysoko ocenić kompetencje Doktorantki zarówno w prawidłowym doborze stosowanych metod jak i sprawności w ich zastosowaniu. Metody doświadczalne zostały z małymi wyjątkami poprawnie i szczegółowo opisane, a opisy te nie pozostawiają wątpliwości o ich umiejętnym zastosowaniu. Autorka jednakże popełniła pewne błędy w opisie przeprowadzonych doświadczeń. Najważniejsze moje zastrzeżenie budzi sprawa analizy fenolowych metabolitów wtórnych w badanym materiale.

Zarówno w rozdziale Materiał i Metody (str. 37) jak i w dalszej części tekstu (wyniki i dyskusja) Autorka wymienia wanilinę wśród oznaczanych kwasów fenolowych oraz rutynę i witeksynę wśród badanych aglikonów flawonoidów. Otóż wanilina jest aldehydem, a zgodnie z opisem we wprowadzeniu literaturowym a także z zarejestrowanymi właściwościami chromatograficznymi (czas retencji pomiędzy kwasami syryngowym i *p*-kumarowym) zapewne oznaczany był kwas wanilinowy. Z kolei umieszczenie rutyny i witeksyny między aglikonami flawonoidów jest błędne: rutyna jest to ramnozylo-glukozyd kwercetyny a witeksyna jest 8-*C*-glukozydem apigeniny. Mam poważne wątpliwości, czy rzeczywiście te dwa związki zostały przez Autorkę poprawnie zidentyfikowane. Ich czasy retencji z kolumny C18 w stosowanym systemie HPLC wskazują na to, że faktycznie mamy do czynienia raczej z innymi aglikonami (glikozydy flawonoidów wymywają się znacznie wcześniej), ale ponieważ praca nie zawiera informacji dotyczących identyfikacji analizowanych związków nie sposób tu merytorycznie się do tego problemu odnieść. Ważnym czynnikiem powodującym te moje powyższe uwagi jest fakt, że Autorka nie podała istotnych parametrów analitycznego rozdziału chromatograficznego HPLC, zwłaszcza stosowanego gradientu eluentów.

Autorka oczywiście nie przeprowadzała sama doświadczenia polowego, z którego pochodził oceniany przez Nią materiał badawczy, jednak dla zrozumienia i interpretacji wyników dobrze byłoby podać w sekcji 7.1.2 czynniki zastosowane w uprawie konwencjonalnej nieobecne w uprawie ekologicznej. Zwłaszcza, że średni plon z poletek konwencjonalnych wynosił niewiele ponad 80% plonu z poletek ekologicznych.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę zostały opisane wraz z ich **Dyskusją** w rozdziale 8. ocenianej pracy i zostały podzielone na siedem podrozdziałów odpowiadającym różnym obszarom przeprowadzonych badań. Wykonano analizy istotnych chemicznych komponentów ziarna, otrąb, mąki i chleba (kwasy fenolowe i flawonoidy, profil kwasów tłuszczowych, oraz mykotoksyny fuzaryjne) oceniono najważniejsze cechy jakościowe ziarna (zawartość białka, glutenu i tłuszczu) i wypieków. Ważnym elementem pracy była ocena zanieczyszczenia badanego materiału pochodzenia roślinnego przez grzyby mikroskopowe przeprowadzona w oparciu o pomiar zawartości specyficznego metabolitu wtórnego – ergosterolu. Właśnie te pomiary pozwoliły na stwierdzenie, że jakkolwiek ziarno z upraw ekologicznych zawierało więcej grzybów, jednak w większości nie były to grzyby toksynotwórcze lecz grzyby symbiotyczne bądź endofityczne nie mające wpływu na wartość spożywczą uzyskiwanych wyrobów. Co więcej, wykonane analizy wykazały, że większość zanieczyszczenia grzybowego dotyczy otrąb a nie mąki, co dodatkowo potwierdza spostrzeżenie, że nawet nieco podwyższona obecność grzybów w ziarnie z upraw ekologicznych nie ma wpływu na jakość uzyskiwanego pieczywa. Spostrzeżenie to jest dodatkowo podparte wynikami analiz zawartości toksyn fuzaryjnych w mące w stosunku do ziarna, gdzie stwierdzono jej spadek powyżej 90% dla wszystkich badanych toksyn i dalszy spadek w chlebie w stosunku do mąki (str. 92). Ważną częścią pracy było określenie cech jakościowych chleba wypiekanego z mąki pochodzącej z upraw konwencjonalnych i ekologicznych. Nie stwierdzono istotnych różnic takich cech jak wydajność ciasta, wydajność pieczywa czy ubytek wypiekowy (str. 73) i niewielkie różnice wyników oceny punktowej jakości pieczywa i jego klasyfikacji (str. 78).

Z obowiązku recenzenta muszę także zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia obecne w recenzowanej rozprawie. Zapoznawszy się z wynikami oznaczeń ilościowych składników ziarna, otrąb i mąki wykonanych różnymi chemicznymi technikami analitycznymi (całkowita zawartość związków fenolowych mierzona kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika Folin-Ciocalteu, zwartość kwasów fenolowych i flawonoidów oznaczana metodą HPLC) można stwierdzić pewną ich niezgodność. Na przykład, suma średnich zawartości kwasów fenolowych w ziarnie z upraw konwencjonalnych oznaczonych metodą HPLC wynosi 763 mg/kg (str. 43), suma zawartości flawonoidów to 534 mg/kg (str. 46), natomiast wartość z pomiaru kolorymetrycznego to zaledwie 452 mg/kg (str. 49).

Podsumowując wyniki opisane i przedyskutowane w recenzowanej pracy chciałbym podkreślić ich najważniejsze zalety:

- Wykonano znaczną liczbę analiz składników chemicznych ziarna, otrąb, mąki i chleba a także zanieczyszczeń pochodzących od grzybów obecnych w tym materiale i nie stwierdzono negatywnych efektów prowadzenia uprawy w warunkach ekologicznych.
- Stwierdzono, że cechy jakościowe chleba wypiekanego z mąki pochodzącej z upraw ekologicznych nie różnią się istotnie od chleba z mąki konwencjonalnej

Recenzowana rozprawa zakończona jest rozdziałem **Wnioski**. Doktorantka formułuje sześć ważnych wniosków, które we właściwy sposób podsumowują uzyskane wyniki. Wnioski te są szczególnie ważne dla ogółu konsumentów wyrobów z mąki pszennej, którzy chcą otrzymywać produkt wysokiej jakości niezawierający szkodliwych żywieniowo zanieczyszczeń pochodzenia grzybowego.

Bibliografia cytowana w rozprawie doktorskiej obejmuje 231 pozycji. Temat pracy doktorskiej oraz stosowane metody badawcze sprawiają, że cytowane publikacje w znacznej mierze dotyczą porównania wyników uzyskanych podczas jej realizacji z wynikami innych prac prowadzonych w zbliżonych warunkach klimatycznych.

Kończąc recenzję rozprawy doktorskiej chciałbym podkreślić staranność wykonania prac eksperymentalnych, zróżnicowaną metodykę badawczą zastosowaną przez Doktorantkę oraz należytą ostrożność w formułowaniu wniosków. Jednocześnie stwierdzam, że wszystkie moje krytyczne uwagi zawarte w recenzji mają raczej charakter techniczny, mogą posłużyć Autorce podczas przygotowywania publikacji uzyskanych wyników i nie mają one wpływu na pozytywną ocenę przedstawionej rozprawy.

3. Wniosek końcowy

Po zapoznaniu się z przedstawioną mi rozprawą doktorską stwierdzam, że jest ona interesującym doniesieniem dotyczącym ważnego zagadnienia efektywności wykorzystania ziarna pszenicy z upraw ekologicznych do wypieku chleba z zachowaniem należytej troski o jego jakość a także jest przesłanką do dalszych prac nad ewentualną możliwością ograniczenia stosowania środków chemicznych w rolnictwie. Ponieważ moim zdaniem praca spełnia wymagania Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) zwracam się do Rady Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie pani mgr. inż. Anny Marii Ostrowskiej-Kołodziejczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.